

**Ю.В. Попов, О.Я. Лукивская,
Е.Е. Нарута, С.М. Зиматкин, В.У. Буко.
АНТИАТЕРОГЕННЫЕ СВОЙСТВА
ДЕГИДРОПРОИЗВОДНОГО ЭСТРО-
ГЕНОВ У КРОЛИКОВ С ЭКСПЕРИ-
МЕНТАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ**

Институт биохимии НАН Беларуси, Гродно

Эстрогены обычно применяются для гормональной заместительной терапии у женщин в постменопаузе для облегчения климактерического синдрома и предупреждения остеопороза. При этом было обнаружено, что лечение эстрогенами предупреждает развитие атеросклероза [1]. Кроме того, экспериментальные данные свидетельствуют об ослаблении признаков атеросклероза у кроликов, получавших высокохолестериновую диету [2].

Активация свободнорадикальных процессов играет важную роль в патогенезе атеросклероза [3]. В связи с этим, в настоящем эксперименте мы изучали антиатерогенные свойства как традиционно изучаемых эстрогенов, 17 α -эстрадиола и его полусинтетического аналога, 17 β -эстрадиола, так и дегидропроизводного 17 α -эстрадиола, 14 α , 15 α -метил-8-дегидро-17 α -эстрадиола (МДГЭ), обладающего свойствами высокоэффективной ловушки свободных кислородных радикалов [4] и относящегося к группе т.н. «скэ-вэстрогенов».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кролики в течение 3 месяцев получали диету, обогащённую холестерином (200 мг/кг веса в день). В течение последнего месяца опыта животным вводили перорально масляные растворы исследуемых препаратов, 17 α -эстрадиола, 17 β -эстрадиола и МДГЭ (0,1 мг/кг веса ежедневно). Животных умерщвляли вскрытием аорты под кетаминным наркозом. Грудная аорта вскрывалась продольно, фиксировалась в 10% формальдегиде и затем окрашивалась Суданом чёрным В. Окрашенные препараты фотографирова-

лись, сканировались и суданофильные зоны интимы измерялись и рассчитывались относительно общей площади аорты с помощью компьютерной системы «Биоскан» (Минск). Отдельные кусочки аорты заливались парафином и срезы (6 μ м) окрашивались гематоксилин-эозином. Толщину интимы аорты измеряли окулярным микрометром $\times 200$ и с помощью системы «Биоскан».

Общий холестерин, эфиры холестерина и триглицериды определяли с помощью наборов "Boehringer Mannheim" (Германия). Липопротеины осаждали гепарином в присутствии Mn^{2+} , после чего определялось содержание липопротеиновых фракций, липопротеинов высокой плотности (ЛВП) и суммы липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), а также распределение в них белков и липидов. Содержание холестерина в ЛВП и ЛНП определяли после преципитации с помощью наборов "Boehringer Mannheim". Данные обрабатывались статистически по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После 3-х месяцев содержания на высокохолестериновой диете в аорте кроликов наблюдались типичные атеросклеротические бляшки, занимающие у некоторых особей до 80% площади интимы, в то время, как у некоторых животных видимые бляшки отсутствовали. У кроликов, получавших диету с холестерином, площадь суданофильного окрашивания аорты резко возрастала (Табл. 1). Все исследуемые соединения значительно снижали этот показатель, причём эффект МДГЭ был наиболее выражен. Результаты морфометрии аорты свидетельствуют о выраженном увеличении интимального слоя у всех групп, получавших диету с холестерином. Статистические различия между группами отсутствовали в силу большой вариабельности показателя, однако минимальная толщина интимы отмечена в группе, получавшей МДГЭ.

Содержание холестерина в аорте резко увеличивалось (более чем в 11 раз) у

кроликов, получавших атерогенную диету (Табл. 2). В сыворотке крови и печени также отмечено резкое увеличение общего, свободного и этерифицированного холестерина. Все исследуемые соединения примерно в 2-4 раза снижали уровень холестерина в аорте, причем максимальный эффект отмечен в группе, получавшей МДГЭ. В то же время, различия между контрольными животными и группами, получавшими эстрогены, оставались статистически достоверными.

Также, как и в аорте, все эстрогены снижали содержание общего и свободного холестерина в сыворотке крови и печени, не изменяя уровень эфиров холестерина.

Уровень холестерина липопротеинов, ЛНП и ЛВП, повышался у кроликов, поедавших высокохолестериновую диету соответственно в 12 и 4 раза (Табл. 2). Все исследуемые соединения существенно снижали эти показатели.

Скармливание высокохолестериновой диеты резко повышало содержание ЛНП и суммы ЛНП+ЛОНП в сыворотке крови кроликов (Табл. 2). Структура липопротеинов в этой группе характеризуется увеличением как белкового, так и липидного компонента для суммы ЛНП+ЛОНП и не изменялась для ЛВП. Все изучаемые препараты достоверно снижали содержание липопротеинов, ЛНП и суммы ЛНП+ЛОНП. Только МДГЭ снижал липидную часть суммы ЛНП+ЛОНП, тогда как белковый компонент уменьшался под влиянием всех эстрогенов.

17 α -эстрадиол и МДГЭ достоверно снижали липидный фрагмент ЛВП. Отношение липид/белок для суммы ЛНП+ЛОНП значительно снижался под влиянием 17 α -эстрадиола, тогда как для ЛВП этот показатель уменьшался в группе, получавшей МДГЭ.

Полученные данные свидетельствуют о выраженном антиатерогенном действии исследуемых эстрогенов, причём по большинству определяемых показателей эффект МДГЭ был наиболее значительным. Ранее нами были получены данные по предупреждению развития атеросклероза у кроликов другим скэвэстрогеном, эстра-1,3,5[10],8-тетраено-3,17 α -дионом

(J811), значительно превосходящем по своему антиокислительному и антиатерогенному действию 17 α -эстрадиол и 17 β -эстрадиол [5].

Антиатерогенный эффект 17 β -эстрадиола описан многими авторами. Предполагается, что этот эстроген сильно угнетает аккумуляцию ЛНП и продуктов его деградации в аорте, а также усиливает выход ЛНП из аорты [6]. В то же время, развитие атеросклеротического поражения инициируется окисленными ЛНП, тогда как нативные ЛНП не оказывают атерогенного действия [7]. Окисление ЛНП осуществляется в результате свободно-радикальных процессов, протекающих в организме. Различные антиоксиданты (витамин Е, β -каротин, пробукол, растительные полифенолы и др.) препятствуют окислению ЛНП и угнетают атеросклеротические повреждения сосудов.

Мы предполагаем, что высокая антиатерогенная активность МДГЭ объясняется, в значительной степени, его выраженными свойствами перехватчика свободных кислородных радикалов и антиоксидантного агента, значительно превосходящими аналогичные свойства 17 α -эстрадиола и 17 β -эстрадиола [4]. В то же время, антиатерогенные свойства эстрогенов могут иметь многофакторный характер и объясняться, помимо предупреждения окислительного повреждения ЛНП, снижением сывороточных липидов, изменениями структуры стенки аорты, а, возможно, и иными факторами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bush T.L., Barrett-Connor E., Cowan L.D. et al. *Circulation*. **75**: 1102-1109, 1987.
2. Haarbo J., Hansen B.F., Christiansen C. *AMPIS*, **99**: 721-727.
3. Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T.E. et al. *N. Engl. Med. J.*, **320**: 915-924.
4. Römer W., Oettel M., Droescher P. et al. *Steroids*, **62**:304-310, 1997
5. Buko V., Lukivskaya O., Naruta E., et al. *Climacteric*, 2001, v. 4, n.1, p. 49-57
6. Haarbo J., Nielsen L., Stender S., et al. *Arterioscler. Thromb.*, 1994; **14**:243-247
7. Daugherty A., Roselaar S.E. *Cardio-vasc. Res.*, 1995; **29**: 297-311.

Таблица 1. Морфологические параметры аорты и содержание холестерина в тканях и липопротеинах кроликов, получавших атерогенную диету

Показатели	Контроль	Холестери- новая диета	Холестери- новая диета + 17 α - эстрадиол	Холестери- новая диета + 17 β -эстрадиол	Холестери- новая диет- та + МДГЭ
Аорта					
Площадь су- данофильной окраски, %	1.2 \pm 0.4	37.6 \pm 8.8*	18.0 \pm 3.1*#	18.7 \pm 3.7*#	6.6 \pm 0.9*#
Толщина интимы, μ м	13.8 \pm 0.5	40.1 \pm 20.6	24.3 \pm 2.7	32.8 \pm 3.8	18.2 \pm 1.4
Общий холе- стерин, мг%	87.3 \pm 19.0	1032.4 \pm 174.2*	322.8 \pm 44.0*#	388.3 \pm 55.5*#	247.2 \pm 44.3 *#
Печень					
Общий холе- стерин, мг%	342 \pm 51.3	2313 \pm 205.6*	1986 \pm 199.4*	1753 \pm 168.2*#	1753 \pm 168.5* #
Свободный холестерин, мг%	120.7 \pm 15.2	1598.0 \pm 133.6*	830.6 \pm 124.8*#	817.4 \pm 139.3*#	683.9 \pm 86.6* #
Эфиры холе- стерина, мг%	222.2 \pm 39.6	814.8 \pm 114.8*	1155.3 \pm 129.7*#	943.5 \pm 99.1	1069.6 \pm 123. 4*
Сыворотка крови					
Общий холестерин, ммоль/л	4.6 \pm 0.31	27.8 \pm 1.81*	11.8 \pm 2.17*#	14.5 \pm 0.93*#	9.5 \pm 1.33*#
Свободный холестерин, ммоль/л	1.5 \pm 0.20	20.2 \pm 2.08*	3.2 \pm 0.42*#	4.5 \pm 0.67*#	2.7 \pm 0.55#
Эфиры холестерина, ммоль/л	3.12 \pm 0.28	7.67 \pm 2.20	7.49 \pm 0.83*	10.27 \pm 1.32*	6,79 \pm 0.98*
Холестерин ЛНП, ммоль/л	1.8 \pm 0.13	21.4 \pm 4.40*	9.2 \pm 1.17*#	9.1 \pm 2.19*#	4.0 \pm 0.98#
Холестерин ЛВП, ммоль/л	1.42 \pm 0.16	5.28 \pm 0.77*	1.37 \pm 0.13#	2.53 \pm 0.28*#	2.21 \pm 0.31#

* - P<0,05 по сравнению с контролем;

- P<0,05 по сравнению с холестериновой группой.

Таблица 2. Содержание и структура липопротеинов сыворотки крови у кроликов, получавших атерогенную диету

Показатели	Контроль	Холестериновая диета	+17 α -эстрадиол	+17 β -эстрадиол	+ МДГЭ
Содержание ЛНП, г/л	2.1 \pm 0.29	23.3 \pm 1.19*	12.8 \pm 1.54*#	10.3 \pm 1.94*#	6.7 \pm 0.93*#
Содержание ЛНП+ЛОНП, г/л	4.40 \pm 0.39	32.4 \pm 1.61*	18.3 \pm 1.78*#	15.1 \pm 0.59#	11.8 \pm 1.76*#
Содержание липидов в ЛНП +ЛОНП, г/л	2,7 \pm 0.39	11,3 \pm 2.26*	4.5 \pm 0.46*#	7.7 \pm 1.09*	5.27 \pm 0.32*#
Содержание белков в ЛНП+ЛОНП, г/л	6.9 \pm 0.27	9.3 \pm 0.62*	6.75 \pm 0.57#	7.46 \pm 0.41#	7.13 \pm 0.61#
Отношение липиды/белки в ЛНП +ЛОНП	0,40 \pm 0.06	1,17 \pm 0.16*	0,70 \pm 0.12#	1.01 \pm 0.09*	0.69 \pm 0.18
Содержание липидов в ЛВП, г/л	1.42 \pm 0.13	1.53 \pm 0.13	0.83 \pm 0.07*#	1.28 \pm 0.12	0.78 \pm 0.08*#
Содержание белков в ЛВП, г/л	4.8 \pm 0.29	4.55 \pm 0.22	4.07 \pm 0.15	3.88 \pm 0.24*	3.68 \pm 0.21
Отношение липиды/белки в ЛВП	0.31 \pm 0.04	0.33 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03	0.33 \pm 0.02	0.22 \pm 0.03#

* - P<0,05 по сравнению с контролем;

- P<0,05 по сравнению с холестериновой группой.